

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-287559
 (43)Date of publication of application : 18.12.1991

(51)Int.Cl.

C07C 57/40
 A01N 37/10
 C07C 57/50
 C07C 69/616
 C12N 9/99

(21)Application number : 02-089479
 (22)Date of filing : 04.04.1990

(71)Applicant : TEIJIN LTD
 (72)Inventor : IMANAKA YOSHIHIKO

(54) NEW ENZYME INHIBITOR

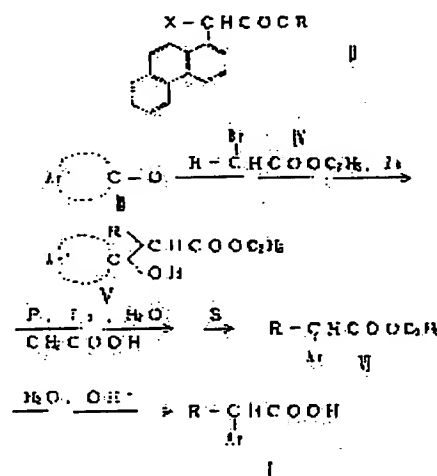
(57)Abstract:

NEW MATERIAL: A carboxylic acid expressed by formula I (R is 2-14C alkyl; Ar is phenanthryl or fluorenyl) and derivatives thereof.

EXAMPLE: A compound expressed by formula II in which X is n-C₄H₉ and R is H.

USE: An enzyme inhibitor, herbicide, plant growth regulator, antimicrobial agent and germicide nontoxic to higher animals.

PREPARATION: For example, an aromatic cyclic ketone expressed by formula III is reacted with ethyl 1-bromocaprylate in the presence of zinc to provide a compound expressed by formula V, which is then passed through a compound expressed by formula VI to afford the objective compound expressed by formula I.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑫ 公開特許公報(A) 平3-287559

⑬ Int. Cl.⁵

C 07 C 57/40
A 01 N 37/10
C 07 C 57/50
69/616
C 12 N 9/99

識別記号

庁内整理番号

6742-4H
8930-4H
6742-4H
8018-4H

⑬ 公開 平成3年(1991)12月18日

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全6頁)

⑭ 発明の名称 新規な酵素阻害剤

⑮ 特 願 平2-89479

⑯ 出 願 平2(1990)4月4日

⑰ 発 明 者 今 中 嘉 彦

東京都日野市旭が丘4丁目3番2号 帝人株式会社東京研究センター内

⑱ 出 願 人 帝 人 株 式 会 社

大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号

⑲ 代 理 人 弁 理 士 前 田 純 博

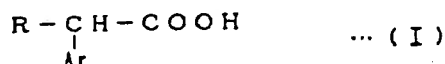
日 月 年 日

1. 発明の名称

新規な酵素阻害剤

2. 特許請求の範囲

(1) 下記式(I)



ただし、式中Rは炭素数2～14のアルキル基であり、Arはフェニル基またはフルオリル基である。

で表わされるカルボン酸及びその誘導体。

(2) 請求項1記載のカルボン酸及びその誘導体を活性成分として含有することを特徴とする除草剤組成物。

3. 発明の詳細な説明

(a) 産業上の利用分野

本発明は、酵素阻害剤に関する。更に詳しくは、

L-システインの生合成系の酵素システインシンターゼ(E.C.4.2.99.8)を強力に阻害するアラキルカルボン酸及びその誘導体に関する。

(b) 従来技術

L-システインは、タンパク成分として生物に不可欠な化合物であり、植物、微生物と動物とは全く別の生合成経路により合成されている。植物、微生物特有のL-システイン生合成を阻害することにより、動物に何等影響を与えることなく植物、微生物を生長阻害あるいは壊死させることが可能である。

植物、微生物においては、L-システインは、O-アセチル-L-セリンと硫化物イオン(S²⁻, SH⁻)またはキャリアタンパクに結合した硫化物とからシステインシンターゼ(EC 4.2.99.8)を触媒として生合成されている。従って、該酵素の阻害は、植物、微生物においてL-システインおよびL-システインより生合成されるL-メチオニンの枯渇をきたし、また有害な硫化物イオンの蓄積等により該生物を生長阻害あるいは壊死さ

せる。即ち、該酵素の阻害剤は、高等動物に無害な殺草剤、植物生長調節剤、あるいは抗菌剤、殺菌剤として極めて有効に作用する。

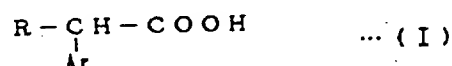
しかしながら、システインシンターゼに対して実質的に有効な阻害剤は未だ全く見出されていない。

(c) 発明の目的

本発明者は、かかる酵素を強力に阻害する化合物を得ることを目的に鋭意研究の結果、特定の芳香環を有するカルボン酸及びその誘導体が著しいシステインシンターゼ阻害作用を有することを見出し、本発明に到達した。

(d) 発明の構成

即ち、本発明は、下記式 (I)



ただし、式中 R は炭素数 2～14 のアルキル基であり、Ar はフェナンチル基またはフルオレニル

基である。炭素数 1～4 のアルキルアミンまたはジエチルアミン、ジイソプロピルアミン、ジブチルアミン等のジアルキルアミンとの縮合により合成される酸アミドであり、塩は通常のカルボン酸塩であり、体カチオンとしてナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、鉄、銅等の金属塩、アンモニウム塩またはトリエチルアンモニウム、ジブチルアンモニウム、N-エチルイソプロピルアンモニウム、N,N-ジメチルブチルアンモニウム等のアミン塩である。

上記式 (I) で表わされる本発明の化合物は、一般的には、以下の如く公知の方法により合成できる。かかる公知反応において、溶媒、温度、時間等の反応の好適条件は、反応の種類、出発原料等により異なるが、通常用いられる範囲で適宜選択できる。

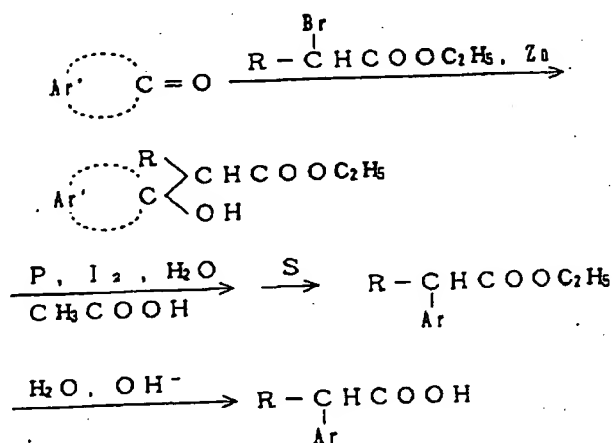
反応図式 1)

基である。
で表わされるカルボン酸及びその誘導体である。

上記式 (I) において、R は炭素数 2～14 のアルキル基であり、具体的には、例えば、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、2-メチルプロピル、ペンチル、ヘキシル、2,4,4-トリメチルブチル、3-エチルペンチル、オクチル、2,4,4-トリメチルペンチル、ノニル、2-エチルヘキシル、デシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル等が挙げられ、就中、炭素数 2～10 の直鎖のアルキル基が好ましく、炭素数 4～8 のアルキル基が特に好ましい。

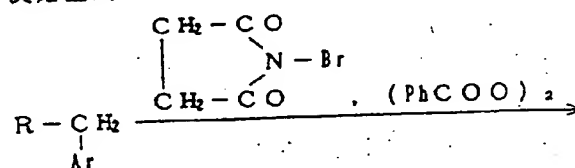
Ar はフェナンチル基またはフルオレニル基であり、就中、1-フェナンチル、9-フェナンチルまたは9-フルオレニルが好ましい。

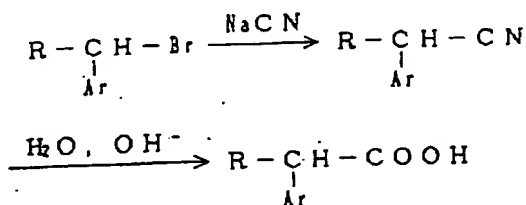
また、本発明のカルボン酸の誘導体とは、エステル、アミドまたは塩を意味する。具体的には、エステル誘導体は炭素数 1～4 のアルキルエステルであり、アミド誘導体はアンモニア、エチルアミン、イソプロピルアミン、ブチルアミン等の炭



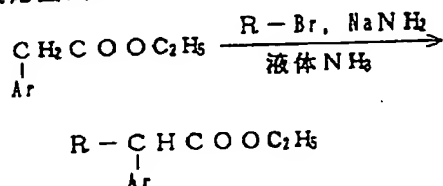
但し、Ar' は芳香族環状ケトンを表わす。

反応図式 2)

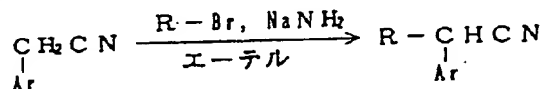




反応図式 3)



または



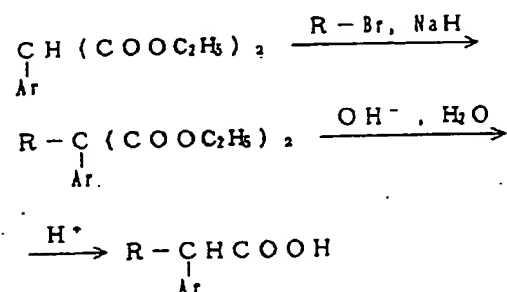
例えば、特許公告公報昭和38-6771号に記載の方法に従い、合成することができる。

反応図式 4)

ン10mlとからなる溶液約3mlを加え、反応の様子を見ながら加熱し、残りの溶液をゆっくり反応系を冷却後、20%硫酸12ml中に注ぎ入れる。反応系をベンゼンで抽出し、5%硫酸、炭酸ナトリウム水溶液、水の順に洗浄の後、硫酸マグネシウムで乾燥する。次いで、溶媒を留去すると淡黄色の液体8.8gが得られる。

該反応物8.8g、赤リン1.7g、ヨード0.5g、水0.5ml、水酢酸25mlを3時間加熱還流させる。反応系を熱浴過し、攪拌下に亜硫酸ナトリウム水溶液中に注ぎ込む。次いで、有機層をエーテル抽出し、水、炭酸ナトリウム、水の順に洗浄の後、硫酸マグネシウムで乾燥させる。溶媒を留去すると7.4gの粘稠な液体が得られる。

該反応混合物7.4g、硫黄1.0gを220℃で2時間反応させる。得られる反応混合物をエチルエーテル20mlで希釈し0.5N水酸化ナトリウム水溶液、水の順に洗浄の後、硫酸マグネシウムで乾燥させる。溶媒を留去すると5.1gの粘稠な液体が得られる。吸着剤シリカゲル60展開溶剤n-ヘキ



例えば、ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサエティ (Journal of American Chemical Society) 66巻1087頁 (1944年) に記載の方法に従い、合成することができる。

より具体的に、例えば、前記式 (I) で表わされる化合物の好適な実施態様の1つである2-(1-フェナンチル) カプリル酸は、以下に記載の方法により合成できる。

(合成法-1)

予め活性化処理した亜鉛2.2gを入れ、α-ブロモカプリル酸エチル6.4g、1,2,3,4-テトラヒドロフェナントレン-1-オン5.0g、ベンゼ

サン/クロロホルム (2/1) を用いてカラムクロマトグラフィーにより分離精製すると2-(1-フェナンチル) カプリル酸エチル2.6gが得られる。次いで、該エステル2.0g、2N水酸化ナトリウム水溶液7.5ml、エタノール10mlを2時間加熱還流させる。反応混合物から溶媒を留去し水に再溶解する。該水溶液をエチルエーテルで洗浄の後、1N塩酸で酸性にしエチルエーテルで抽出する。該抽出物を水洗し硫酸マグネシウムで乾燥の後、溶媒を留去すると粘稠な液体1.7gが得られる。得られる化合物はすぐに結晶化し、高純度の2-(1-フェナンチル) カプリル酸が得られる。

また、本発明の前記式 (I) で表わされる化合物の好適な別の実施態様の1つである2-(9-フェナンチル) カプロン酸は、以下に記載の方法により合成できる。

(合成法-2)

約0.1モルのブチルマグネシウムブロミドを溶かしたベンゼン溶液80ml中に9-シアノフェナントレン10gを添加し、窒素気流下に3時間加熱還

流する。冷却後、6 N 塩酸 50 ml を冷却しながら添加し、次いで 6 時間加熱還流する。冷却後、有機層を分離し、炭酸水素ナトリウム水溶液、水の順に洗浄し硫酸マグネシウムで乾燥させる。溶媒を留去すると粘稠液体 12 g が得られる。

該反応物質 12 g、水酸化カリウム、80% ヒドラジンヒドレート 4.6 ml、ジエチレングリコール 44 ml を混合し 1.5 時間加熱還流の後、水分を留去し、次いで、更に反応系の温度を高め約 200 °C で 2 時間反応させる。急冷後、水 44 ml で希釈し 6 N 塩酸 26 ml をゆっくり加える。析出する沈殿物を回収し、水洗後乾燥する。吸着剤シリカゲル 60 展開溶剤 n-ヘキサンを用いてカラムクロマトグラフィーにより分離精製すると 9-ベンチルフェナントレン 5.5 g が得られる。

次いで、該化合物 5.5 g、N-プロモスクシニミド 4.2 g、ベンゾイルパーオキシド 70 mg、4 塩化炭素 30 ml を混合し、窒素気流下 7 時間加熱還流する。冷却後、濾過し得られる濾液から溶媒を留去し固形物として 7.5 g が得られる。

本発明の前記式 (I) で表わされる化合物は、高いシステインシンターゼ阻害活性を有しており、該化合物を活性成分とする除草剤を提供することができる。かかる除草剤は、水和剤、乳剤、噴霧用溶液、粉剤、浸漬剤、分散剤、粒剤等の通常の製剤形態として使用されうる。また、対象とする植物の種類、植物の生育段階、環境条件等により異なるが、該化合物の使用量を調節することによって、植物生長調整剤としても使用することができる。

また、植物と同様の L-システイン生合成系を有する微生物に対しても、本発明の化合物は有効である。すなわち、該化合物を殺菌成分として含有する組成物を提供することができ、対象とする微生物の種類あるいは該化合物の使用量によって、抗菌剤あるいは殺菌剤として使用できる。

(c) 実施例

以下に実施例を挙げ、本発明を更に詳しく説明する。

実施例 1

シアン化ナトリウム 0.6 g、ジメチルスルホキシド 3 ml の分散液中に、該反応物 3.6 g、ジメチルスルホキシド 2.5 ml からなる溶液を窒素気流中約 70 °C に加熱下ゆっくり添加し 1 時間反応させる。次いで、水 20 ml 添加し、エチルエーテルを用いて抽出し、6 N 塩酸、水の順に洗浄後、硫酸マグネシウムにより乾燥させる。溶媒を留去すると粘稠液体 2.7 g が得られ、吸着剤シリカゲル 60 展開溶剤 n-ヘキサン/クロロホルム (2/1) を用いてカラムクロマトグラフィーにより分離精製すると 9-(2-シアノベンチル)フェナントレン 1.8 g が得られる。

該シアノ化合物 1.8 g、水酸化カリウム 1.3 g、水 7 ml、エチレングリコールモノエチルエーテル 5.2 ml を混合し、窒素気流下 5 時間加熱還流する。該反応物を塩酸 1.2 ml、水 10 ml 中に添加する。得られる固形物を水洗後、乾燥させ反応混合物 1.8 g が得られる。該反応混合物をアルカリ溶解し、沈殿を除去後酸析することにより 2-(9-フェナントル)カブロン酸 1.3 g が得られる。

前記合成法 1 と同様にして、以下の化合物を合成した (表 1)。

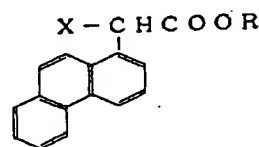


表 1

化合物	X	R	融点 (°C)
1	n-C ₄ H ₉	H	113-114
2	n-C ₆ H ₁₃	H	76-79
3	"	C ₂ H ₅	液体
4	n-C ₈ H ₁₇	H	92-94

以下に、化合物 1 の ¹H-NMR の特性吸収 (δ 値) を示した。

δ 値 (ppm): 0.86 (トリプレット), 1.2 ~ 1.4 (マルチプレット), 1.9 ~ 2.0 (マルチプレット), 2.25 ~ 2.35 (マルチプレット), 4.46 (ト

リアレット), 7.6 ~ 7.7 (マルチブレット), 7.8 (ダブルレット), 7.9 (ダブルレット), 8.07 (ダブルレット), 8.65 ~ 8.75 (マルチブレット)

実施例 2

反応図式 1 に則り、出発原料にフルオレノンを用いて合成法 1 と同様にして以下の化合物を合成した (表 2)。

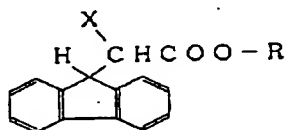


表 2

化合物	X	R	融点 (°C)
5	n-C ₄ H ₉	H	106-107
6	"	C ₂ H ₅	液体
7	n-C ₆ H ₁₃	H	57- 58
8	n-C ₈ H ₁₇	H	38- 39

以下に、化合物 5 の ¹H-NMR の特性吸収 (δ

表 3

化合物	X	R	融点 (°C)
9	n-C ₄ H ₉	H	109-111

以下に、化合物 9 の ¹H-NMR の特性吸収 (δ 値) を示した。

δ 値 (ppm): 0.88 (トリブレット), 1.3 ~ 1.5 (マルチブレット), 1.95 ~ 2.1 (マルチブレット), 2.25 ~ 2.4 (マルチブレット), 4.4 (トリブレット), 7.55 ~ 7.7 (マルチブレット), 7.88 (シングレット), 7.85 (ダブルレット), 8.19 (ダブルレット), 8.65 (ダブルレット), 8.76 (ダブルレット)

実施例 4

(酵素阻害活性の評価)

以下の方法により、システインシンターゼをホウレンソウ葉より分離精製し評価に使用した。

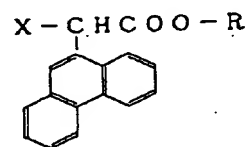
新鮮なホウレンソウ 100 ~ 150 g を、予め 2°C に冷却した 10mM 2-メルカプトエタノールと 0.25 M ショ糖を含む 0.1 M ホスフェートバッファ溶液

値) を示した。

δ 値 (ppm): 0.72 (トリブレット), 0.75 ~ 0.85 (マルチブレット), 1.0 ~ 1.2 (マルチブレット), 1.2 ~ 1.3 (マルチブレット), 1.4 ~ 1.5 (マルチブレット), 3.15 ~ 3.2 (マルチブレット), 4.25 (ダブルレット), 7.28 ~ 7.38 (マルチブレット), 7.40 (トリブレット), 7.56 (トリブレット), 7.76 (ダブルレット)

実施例 3

前記合成法 2 により以下の化合物を合成した (表 3)。



(pH 7.5) 400 ~ 500 ml 中でブレンダーを用いて約 2 分間ホモジナイズした。得られたホモジネートを遠心脱水機により固形分を除去し、更に 11000 × g で 30 分間の遠心分離により上清を分離した。

粗抽出液を 80°C の湯浴上で激しく攪拌下 60°C, 2 分間の加熱処理を行い、次いで 4°C に急冷した後、11000 × g で 20 分間の遠心分離により沈殿物を除去した。該上清に硫酸アンモニウムを 0.209 g/ml の割合で徐々に加え溶解し、そのまま 30 分間放置した後、11000 × g で 20 分間遠心分離を行い沈殿物を除去した。得られた上清に更に硫酸アンモニウムを 0.238 g/ml の割合で徐々に加え溶解し、そのまま 30 分間放置した後、生じた沈殿を 11000 × g で 20 分間遠心分離により沈降させ上清を廃棄した。

得られた沈殿物を 10mM 2-メルカプトエタノールと 0.5mM EDTA を含む 0.03M ホスフェートバッファ溶液 (pH 8.0) (バッファ溶液-B とする) 30ml に再溶解し、バッファ溶液-B を用いて一晚透析した。透析液を予めバッファ溶液-B で平衡

化したEDAE-セファデックスA-50カラム(15×40mm)に充填した。カラムに、0.03~0.20M リニア濃度勾配のホスフェートバッファ溶液(10mM 2-メルカプトエタノールと0.5mM EDTAを含有、pH8.0)を流速1 ml/mで80ml流し、4 mlごとに分画した。0.110~0.175 Mホスフェート面分を集め、硫酸アンモニウムを0.662 g/mlの割合で徐々に加えタンパク成分を沈殿させ、16000×gで20分間遠心分離を行い上清を廃棄した。沈殿を少量のバッファ溶液-Bに再溶解し、同じバッファ溶液を用いて一晩透析した。この透析液をシステインシンターゼ溶液として用いた。

次に、システインシンターゼの阻害活性は以下に記した方法で行った。

10mlの活栓付き試験管に5.0mM O-アセチル-L-セリン、5.0mM 流下ナトリウム、阻害剤200~0 μMを含む0.05Mホスフェートバッファ溶液(pH8.0) 1 mlを入れ、25℃で2分間インキュベートした後、適当な活性を有するシステインシンターゼ溶液20 μlを添加し激しく振盪しながら25℃

で10分間インキュベートした。該酵素反応により生成するシステインの量を測定した。

酵素阻害活性は、阻害剤添加系のシステイン生成量と阻害剤無添加系(コントロール)のシステイン生成量との比で示され、阻害剤を40 μM添加した時の比の値から求めた(100×添加系生成量/無添加系生成量)。また、O-アセチル-L-セリン濃度及び阻害剤候補濃度の2水準についてシステインシンターゼ阻害活性を求め、ディクソン(Dixon)プロットより阻害定数(Ki値)求めた。

表4に化合物1~9のシステインシンターゼ阻害活性を示した。

表 4

化合物	システインシンターゼ阻害活性 (%)	Ki 値 (μM)
1	87	1.8
2	73	8.4
3	37	
4	66	
5	55	9.2
6	35	
7	36	32
8	49	
9	56	8.6

・ は一部不溶分がみられた。

実施例5

化合物2, 5, 9のタバコ細胞に対する増殖阻害活性を以下の方法により評価した。新鮮重量1.0 gの該細胞を、 10^{-5} Mのα-ナフトレン酢酸と 10^{-6} Mのベンジルアデニンとを含むムラシゲースターク(MS)培地30ml中に無菌下に植え付け、化合物Bを添加(テスト系)または添加せず(コ

ントロール系)3000lxの明所下125rpmの条件で1週間振盪培養した。培養後細胞を収穫し、その乾燥重量の比較した。その結果を表5に示した。

表 5

化合物	タバコ細胞増殖阻害活性	
	生長阻害濃度	壊死濃度(ppm)
2	10	30
5	3	10
9	10	30

特許出願人 帝人株式会社
代理人 井理士 前田 純 博